



|              |   |
|--------------|---|
| Title        | レトロウイルスの遺伝子発現に係わる細胞変異株の分離と解析  |
| Author(s)    | 井坂, 正身  |
| Citation     | 大阪大学, 1992, 博士論文  |
| Version Type |   |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/38005">https://hdl.handle.net/11094/38005</a>   |
| rights       |   |
| Note         | 著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。 |

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

|            |  |
|------------|--|
| 氏名         | 井坂正身                                   |
| 博士の専攻分野の名称 | 博士（医学）                                 |
| 学位記番号      | 第 10160 号                              |
| 学位授与年月日    | 平成 4 年 3 月 25 日                        |
| 学位授与の要件    | 学位規則第 4 条第 1 項該当<br>医学研究科 病理系専攻        |
| 学位論文名      | レトロウイルスの遺伝子発現に係わる細胞変異株の分離と解析           |
| 論文審査委員     | (主査) 教授 羽倉 明<br>(副査) 教授 岡山 博人 教授 山西 弘一 |

## 論文内容の要旨

## (目的)

現在、細胞癌化に関与するウイルス遺伝子やその産物については実に多くの知見が得られている。しかし、腫瘍ウイルスによる細胞癌化の過程を解明するためには、ウイルス感染から癌化に至る過程で機能する細胞側因子を明らかにすることが必要である。本研究は腫瘍ウイルスによる癌化に耐性を示す細胞変異株の簡便な分離法を確立し、分離した変異細胞の性質を調べることで、腫瘍ウイルス感染及び癌化に係わる細胞側因子を明らかにすることを目的とした。

## (方法及び結果)

Fischer Rat 由来の株細胞 F2408 の HGPRT 株 (No. 7 株) を親株として用いた。Mutagen として紫外線 (UV) を用い、UV 照射した No. 7 株にモロニー白血病ウイルス (Mo-MuLV) の LTR から RSV の src 遺伝子を発現する組換えレトロウイルス (pZip-src virus) を感染させた後、正常に近い形態を示す約 400 の細胞株を得た。そのほとんどは感染に用いたウイルスの持つ src 遺伝子に変異を持つ細胞であることが分かった。分離した細胞中、2 株は、pZip-src virus の再感染に耐性を示し、かつ、トランシスフォーム能を持ったウイルスが回収可能であることから、これらは src 遺伝子の変異ではなく細胞側の遺伝子に変異を持つ変異細胞であることが分かった。上記 2 株の変異株中の src mRNA 量や src 遺伝子産物による protein kinase 合戦は pZip-src virus を感染させた No. 7 株 (ZS 7-3) に比べ減少していた。また、同変異細胞に Mo-MuLV LTR から v-src と v-K-ras 遺伝子を発現する pZip-src と pZip-ras, polyomavirus のプロモーター／エンハンサーから polyoma middle T antigen を発現する pMT, 自己のプロモーターから human activated c-H-ras 遺伝子を発現する pEJ 6.6 をそれぞれ導入したとこ

ろ、pZip-src, pZip-rasではfocusの形成がNo.7株より減少していることが分かった。以上の結果は、今回得られた変異株がMo-MuLVのLTRに作用する細胞側の因子に変異を持つ細胞である可能性を示唆している。上記可能性を確認するために、バクテリアのchloramphenicol acetyl-transferase(CAT)遺伝子の上流にMo-MuLV LTRを連結したplasmid DNAを使用し、transient expression実験を行った。これらの変異株でのCAT活性はNo.7株に比べ5分の1に減少しており、分離した2株はMo-MuLV LTRを介した転写に必要な細胞側の因子に変異を持つ変異細胞であることが分かった。次に、この細胞側因子のMo-MuLV LTRへの作用部位を決定するため、Mo-MuLV LTRの色々な領域にdeletionを持つplasmid DNAを使用し上記と同様の実験を行い、同因子がLTR中のエンハンサー領域に作用することを明らかにした。また、これらの変異遺伝子の性質を調べるために、変異株とNo.7株との雑種細胞を作製したところ、得られた雑種細胞で変異の回復は認められなかった。このことから、得られた変異株の持つ変異は親株に対し優性変異であることが分かった。

#### (総括)

- ① 腫瘍ウイルスでトランスフォームした細胞より正常復帰変異細胞を単離するための簡便な方法を確立した。
  - ② 上記の方法で分離した変異細胞株中、2株はMo-MuLV LTRを介しての転写に特異的に関与する細胞側因子に変異を持つ細胞であることを明らかにした。
  - ③ その細胞側因子はMo-MuLV LTR中のエンハンサー領域に作用することを明らかにした。
  - ④ その変異細胞の持つ変異は親株に対して優性の性質を示す。
- 今回分離した2株の変異細胞株は、レトロウイルス遺伝子発現の調節機構の研究に役立つと考えられる。

#### 論文審査の結果の要旨

腫瘍ウイルスによる細胞癌化の過程を解明するためには、ウイルス感染から癌化に至る過程で機能する細胞側因子を明らかにすることが必要である。本論文では腫瘍ウイルスによる癌化に耐性を示す細胞変異株の簡便な分離法を確立し、分離した変異細胞の性質を調べることで、腫瘍ウイルスの感染から癌化に至る過程に係わる細胞側因子を明らかにしようとしたものである。

今回、確立した方法で分離したラット変異細胞株中2株は、モロニー白血病ウイルス(Mo-MuLV)のLTRを介しての転写に特異的に関与する細胞側因子に変異を持つ細胞であり、また、その細胞側因子はMo-MuLV LTR中のエンハンサー領域に作用することを明らかにした。さらに、その変異細胞の持つ変異は親株に対して優性の性質を示した。これらの知見は、正に制御を担うエンハンサー領域が負の制御の役割も担っている可能性を示唆している。

以上、本論文で示した腫瘍ウイルスによる癌化に耐性を示す細胞変異株の分離法は従来の分離法より効率よく、簡便に変異株を分離することが可能である。さらに、今回分離した2株の変異細胞株は、レ

トロウイルスの遺伝子発現の調節機構の研究に役立つものと評価でき、学位論文に値するものと認める。